

Rec'd PCT/PTO 28 DEC 2004

10/519559

特 許 協 力 条 約

PCT

REC'D 29 APR 2004

WIPO

PCT

国際予備審査報告

(法第12条、法施行規則第56条)
[PCT36条及びPCT規則70]

出願人又は代理人 の書類記号 P 0 2 3 P 0 5	今後の手続きについては、国際予備審査報告の送付通知(様式PCT/ IPEA/416)を参照すること。	
国際出願番号 PCT/J P 0 3 / 0 8 2 4 4	国際出願日 (日.月.年) 2 7 . 0 6 . 2 0 0 3	優先日 (日.月.年) 2 8 . 0 6 . 2 0 0 2
国際特許分類 (IPC) Int. Cl ⁷ A61K9/51, A61K47/42, A61K48/00, A61P1/16, A61P35/00, A61P43/00		
出願人 (氏名又は名称) 科学技術振興事業団		

1. 国際予備審査機関が作成したこの国際予備審査報告を法施行規則第57条 (PCT36条) の規定に従い送付する。

2. この国際予備審査報告は、この表紙を含めて全部で 7 ページからなる。

☒ この国際予備審査報告には、附属書類、つまり補正されて、この報告の基礎とされた及び/又はこの国際予備審査機関に対してした訂正を含む明細書、請求の範囲及び/又は図面も添付されている。

(PCT規則70.16及びPCT実施細則第607号参照)

この附属書類は、全部で 2 ページである。

3. この国際予備審査報告は、次の内容を含む。

I ☒ 国際予備審査報告の基礎II ☐ 優先権III ☒ 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての国際予備審査報告の不作成IV ☐ 発明の単一性の欠如V ☒ PCT35条(2)に規定する新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての見解、それを裏付けるための文献及び説明VI ☐ ある種の引用文献VII ☐ 国際出願の不備VIII ☒ 国際出願に対する意見

国際予備審査の請求書を受理した日 10.12.2003	国際予備審査報告を作成した日 13.04.2004	
名称及びあて先 日本国特許庁 (IPEA/J P) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官 (権限のある職員) 大久保元浩	4 C 8 8 2 8
電話番号 03-3581-1101 内線 3452		

様式PCT/IPEA/409 (表紙) (1998年7月)

I. 国際予備審査報告の基礎

1. この国際予備審査報告は下記の出願書類に基づいて作成された。(法第6条(PCT14条)の規定に基づく命令に
 応答するために提出された差し替え用紙は、この報告書において「出願時」とし、本報告書には添付しない。
 PCT規則70.16, 70.17)

☐ 出願時の国際出願書類

☒ 明細書 第 1-34 ページ、 出願時に提出されたもの
 明細書 第 _____ ページ、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
 明細書 第 _____ ページ、 _____ 付の書簡と共に提出されたもの

☒ 請求の範囲 第 2-11 項、 出願時に提出されたもの
 請求の範囲 第 _____ 項、 PCT19条の規定に基づき補正されたもの
 請求の範囲 第 _____ 項、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
 請求の範囲 第 1 項、 15.03.2004 付の書簡と共に提出されたもの

☒ 図面 第 1/13-13/13 ページ/図、 出願時に提出されたもの
 図面 第 _____ ページ/図、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
 図面 第 _____ ページ/図、 _____ 付の書簡と共に提出されたもの

☒ 明細書の配列表の部分 第 1/19-19/19 ページ、 出願時に提出されたもの
 明細書の配列表の部分 第 _____ ページ、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
 明細書の配列表の部分 第 _____ ページ、 _____ 付の書簡と共に提出されたもの

2. 上記の出願書類の言語は、下記に示す場合を除くほか、この国際出願の言語である。

上記の書類は、下記の言語である _____ 語である。

- ☐ 国際調査のために提出されたPCT規則23.1(b)にいう翻訳文の言語
☐ PCT規則48.3(b)にいう国際公開の言語
☐ 国際予備審査のために提出されたPCT規則55.2または55.3にいう翻訳文の言語

3. この国際出願は、ヌクレオチド又はアミノ酸配列を含んでおり、次の配列表に基づき国際予備審査報告を行った。

- ☒ この国際出願に含まれる書面による配列表
☒ この国際出願と共に提出された磁気ディスクによる配列表
☐ 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出された書面による配列表
☐ 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出された磁気ディスクによる配列表
☐ 出願後に提出した書面による配列表が出願時における国際出願の開示の範囲を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった
☒ 書面による配列表に記載した配列と磁気ディスクによる配列表に記載した配列が同一である旨の陳述書の提出があった。

4. 補正により、下記の書類が削除された。

☐ 明細書 第 _____ ページ
☐ 請求の範囲 第 _____ 項
☐ 図面 図面の第 _____ ページ/図

5. ☐ この国際予備審査報告は、補充欄に示したように、補正が出願時における開示の範囲を越えてされたものと認められるので、その補正がされなかったものとして作成した。(PCT規則70.2(c) この補正を含む差し替え用紙は上記1.における判断の際に考慮しなければならず、本報告に添付する。)

Ⅲ. 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての国際予備審査報告の不作成

1. 次に関して、当該請求の範囲に記載されている発明の新規性、進歩性又は産業上の利用可能性につき、次の理由により審査しない。

☐ 国際出願全体

☒ 請求の範囲 11

理由:

☒ この国際出願又は請求の範囲 11 は、国際予備審査をすることを要しない次の事項を内容としている（具体的に記載すること）。

請求の範囲 11 は治療による人体の処置方法に関する態様を含むものであって、PCT第34条(4)(a)(i)及びPCT規則67.1(iv)の規定により、この国際予備審査機関が国際予備審査を行うことを要しない対象に係るものである。

☐ 明細書、請求の範囲若しくは図面（次に示す部分）又は請求の範囲 の記載が、不明確であるため、見解を示すことができない（具体的に記載すること）。

☐ 全部の請求の範囲又は請求の範囲 が、明細書による十分な裏付けを欠くため、見解を示すことができない。

☒ 請求の範囲 11 について、国際調査報告が作成されていない。

2. ヌクレオチド又はアミノ酸の配列表が実施細則の附属書C（塩基配列又はアミノ酸配列を含む明細書等の作成のためのガイドライン）に定める基準を満たしていないので、有効な国際予備審査をすることができない。

☐ 書面による配列表が提出されていない又は所定の基準を満たしていない。

☐ 磁気ディスクによる配列表が提出されていない又は所定の基準を満たしていない。

V. 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての法第12条（PCT35条(2)）に定める見解、それを裏付ける文献及び説明

1. 見解

新規性 (N)	請求の範囲	5, 9, 10	有
	請求の範囲	1-4, 6-8	無
進歩性 (IS)	請求の範囲		有
	請求の範囲	1-10	無
産業上の利用可能性 (IA)	請求の範囲	1-10	有
	請求の範囲		無

2. 文献及び説明 (PCT規則70.7)

- ・文献1: EP919568 A1 (SORIN DIAGNOSIS S R L) 1999.06.02 文献全体、claim 29 & US 6172193 A & JP 11-253184 A
- ・文献2: MANGOLD, C.M. et al. 'Analysis of intermolecular disulfide bonds and free sulfhydryl groups in hepatitis B surface antigen particles.' Arch. Virol., 1997, vol.142, no.11, p.2257-2267 文献全体、Fig.3,4
- ・文献3: PRANGE, R. et al. 'Mutational analysis of HBsAg assembly.' Intervirology, 1995, vol.38, no.1-2, p.16-23 文献全体、Table1
- ・文献4: MANGOLD, C.M. et al. 'Secretion and antigenicity of hepatitis B virus small envelope proteins lacking cysteines in the major antigenic region.' Virology, 1995, vol.211, no.2, p.535-543 文献全体、Fig.1-5、Table1, 2
- ・文献5: BRUCE S.A. et al. 'Mutations of some critical amino acid residues in the hepatitis B virus surface antigen.' J. Med. Virol., 1995, vol.46, no.2, p.157-161 文献全体、Fig.1
- ・文献6: ANTONI, B.A. et al. 'Site-directed mutagenesis of cysteine residues of hepatitis B surface antigen. Analysis of two single mutants and the double mutant.' Eur. J. Biochem., 1994, vol.222, no.1, p.121-127 文献全体、Fig.1-4
- ・文献7: MANGOLD, C.M. et al. 'Mutational analysis of the cysteine residues in the hepatitis B virus small envelope protein.' J. Virol., 1993, vol.67, no.8, p.4588-4597 文献全体、Fig.3
- ・文献8: ASHTON-RICKARDT, P.G. et al. 'Mutants of the hepatitis B virus surface antigen that define some antigenically essential residues in the immunodominant region.' J. Med. Virol., 1989, vol.29, no.3, p.196-203 文献全体、Fig.1
- ・文献9: WO 01/64930 A1 (JAPAN SCIENCE AND TECHNOLOGY CORP) 2001.09.07 & EP 1262555 A1 & JP 2001-316298 A

(以上文献1 - 9は国際調査報告で引用された文献である)

Ⅷ. 国際出願に対する意見

請求の範囲、明細書及び図面の明瞭性又は請求の範囲の明細書による十分な裏付についての意見を次に示す。

(A)

請求の範囲1, 3, 4, 6-10は、「特定の細胞に対する認識能を有し、粒子形成能を有するタンパク質からなる」という、特定の性質を有する中空ナノ粒子を発明特定事項として含むものである。そして、そのような性質の中空ナノとしては様々なものが包含され得るが、PCT6条の意味において明細書に裏付けられ、また、PCT5条の意味において開示されている中空ナノ粒子は、B型肝炎ウイルス表面抗原タンパク質に由来するもののみである。

よって、本報告書では、上記中空ナノ粒子を構成するタンパク質として、B型肝炎ウイルス表面抗原タンパク質もしくはその改変体を採用している先行技術について主に行った調査の結果に基づき、報告をするものである。

(B)

また、タンパク質がB型肝炎ウイルス表面抗原タンパク質に限定されている請求の範囲2, 5についても、請求の範囲2では改変されるシステイン残基の位置及びその改変内容について何等特定されておらず、請求の範囲5においても各システイン残基を置換するアミノ酸の種類について何等特定されていないから、請求の範囲2, 5はいずれも、アミノ酸配列の異なる非常に多数の中空ナノ粒子を包含するものである。

しかし、それにもかかわらず、PCT6条の意味において明細書に裏付けられ、また、PCT5条の意味において開示されているのは、クレームされた範囲中のごくわずかな改変例に過ぎないものと認められる。

補充欄 (いずれかの欄の大きさが足りない場合に使用すること)

第 V 欄の続き

(1)

文献1には、B型肝炎ウイルス表面抗原タンパク質で構成される中空ナノ粒子において、同タンパク質中の120～123, 147, 149番目のアミノ酸のいずれかを他のアミノ酸に改変してなるものについて記載されており、その一例として、粒子外部に存在する149番目のシステイン残基をチロシン(親水性アミノ酸に該当する)とすることも記載されている。

よって、請求の範囲1, 2, 6-8は、文献1により新規性及び進歩性を有さない。

なお、「細胞導入物質を封入するための」との限定が付されていても、請求の範囲1の発明は中空ナノ粒子自体、即ち化学物質自体に係る発明であると認められる。(この点、以下の(2)の認定、判断においても同様である。)

また、文献1と同じB型肝炎ウイルス表面抗原タンパク質から構成される中空ナノ粒子に、有用タンパクをコードする遺伝子を細胞導入物質として封入してなる薬剤を調製することは文献9記載のように既に知られたところであって、文献9記載の同中空ナノ粒子にかえて文献1の記載に基づき得られる粒子形成能を維持したB型肝炎ウイルス表面抗原タンパクを適用してみることは、当業者にとり格別の技術的困難性を要しない。

そして、そのようにしてなる改変HBsAg中空ナノ粒子含有薬剤の全てのものが、例えば細胞導入物質の組織内への特異的導入に関し、文献9の中空ナノ粒子含有薬剤に代表される先行技術水準から予想されるところを超えて優れた効果を奏することについて、具体的な比較実験データ等に基づき確認することもできない。いいかえれば、各請求の範囲9, 10においては、本願の図8～13で、野生型HBsAg粒子を採用した場合と比較してGFP導入効率において予想外の優れた効果が奏された旨示されている、特定の改変中空ナノ粒子のみを採用することが、発明特定事項とされているわけではない。

よって、請求の範囲9, 10は、文献1及び文献9により進歩性を有さない。

(2)

文献2-8には、B型肝炎ウイルス表面抗原タンパク質を構成するアミノ酸配列中に存在する48, 65, 69, 76, 90, 107, 121, 124, 137, 138, 139, 147, 149及び221番目のシステイン残基のうちの1或いは複数個を他のアミノ酸で置換することにより得られる、変異中空ナノ粒子について記載されている。そして、特にその例として、例えば文献2, 3には、膜貫通領域に存在する76, 90又は221番目のいずれかのシステイン残基をアラニン又はフェニルアラニン(いずれも疎水性アミノ酸に該当する)に置き換えてなるものについて具体的に記載されているし、文献4には、膜貫通領域に存在する107, 149番目のいずれかのシステイン残基をアラニンに置き換えてなるものについて具体的に記載されているし、文献5には、粒子外部に存在する137-139番目のいずれかのシステイン残基をセリン(親水性アミノ酸に該当する)に置き換えてなるものについて具体的に記載されているし、文献6には、粒子外部に存在する121, 124番目のいずれかのシステイン残基をセリンに置き換えてなるものについて具体的に記載されているし、文献7には、膜貫通領域に存在する76, 90番目のいずれかのシステイン残基をアラニンに、及び/又は、粒子内部に存在する48, 65, 69番目のいずれかのシステイン残基をセリンに置き換えてなるものについて具体的に記載されているし、文献8にも、粒子外部に存在する121, 147番目のいずれかのシステイン残基をセリンに置き換えてなるものについて具体的に記載されている。

よって、請求の範囲1-4, 6-8は、文献2-8のいずれかにより新規性及び進歩性を有さない。

補充欄 (いずれかの欄の大きさが足りない場合に使用すること)

第 V 欄の続き

また、文献2-8に具体的に例示されているもの以外でも、各文献のいずれかの記載に基づき、上記14カ所のシステイン残基の一部もしくは全部を他のアミノ酸に置き換えてその中空ナノ粒子としての性質の変化の有無について調べてみることは、当業者にとり格別の技術的困難性を伴うこととはいえないから、請求の範囲5は、文献2-8のいずれかにより進歩性を有さない。

さらに、文献2-8と同じB型肝炎ウイルス表面抗原タンパク質から構成される中空ナノ粒子に、有用タンパクをコードする遺伝子を細胞導入物質として封入してなる薬剤を調製することは文献9記載のように既に知られたところであって、文献9記載の同中空ナノ粒子にかえて文献2-8のいずれかの記載に基づき得られる粒子形成能を維持したB型肝炎ウイルス表面抗原タンパクを適用してみることは、当業者にとり格別の技術的困難性を要しない。

そして、そのようにしてなる改変HBsAg中空ナノ粒子含有薬剤の全てのものが、例えば細胞導入物質の組織内への特異的導入に関し、文献9の中空ナノ粒子含有薬剤に代表される先行技術水準から予想されるところを超えて優れた効果を奏することについて、具体的な比較実験データ等に基づき確認することもできない。いいかえれば、各請求の範囲9、10においては、本願の図8~13で、野生型HBsAg粒子を採用した場合と比較してGFP導入効率において予想外の優れた効果が奏された旨示されている、特定の改変中空ナノ粒子のみを採用することが、発明特定事項とされているわけではない。

よって、請求の範囲9、10は、文献2-8のいずれか、及び文献9により進歩性を有さない。

請 求 の 範 囲

1. (補正後)特定の細胞に対する認識能を有し、粒子形成能を有するタンパク質からなる、細胞導入物質を封入するための中空ナノ粒子において、当該タンパク質に含まれる少なくとも1つのシステイン残基が改変されてなる中空ナノ粒子。

2. 上記タンパク質は、B型肝炎ウィルス表面抗原タンパク質である請求項1記載の中空ナノ粒子。

3. 膜貫通領域に存在する少なくとも1つのシステイン残基が疎水性アミノ酸に置換され、及び／又は、粒子外部または内部に存在する少なくとも1つのシステイン残基が親水性アミノ酸に置換されている請求項1または2記載の中空ナノ粒子。

4. 膜貫通領域に存在する少なくとも1つのシステイン残基がアラニン残基に置換され、及び／又は、粒子外部または内部に存在する少なくとも1つのシステイン残基がセリン残基に置換されている請求項3記載の中空ナノ粒子。

5. 上記B型肝炎ウィルス表面抗原タンパク質の、Sタンパク質アミノ酸配列におけるN末端部分から数えて76,90,139,147,149,221番目のシステイン残基が置換され、かつ、137,138番目のシステイン残基から選ばれる少なくとも1つが置換されている請求項2～4の何れか1項に記載の中空ナノ粒子。

6. 上記システイン残基の改変は、上記粒子形成能を有するタンパク質をコードする遺伝子に変異を導入し、この変異遺伝子を発現させることにより行われることを特徴とする請求項1～5の何れか1項に記

35 / 1

載の中空ナノ粒子。

Translation

Rec'd PCT/PTO 20 DEC 2004
PATENT COOPERATION TREATY

10/51955.9

PCT/JP2003/008244



PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

Applicant's or agent's file reference P023P05	FOR FURTHER ACTION See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416).	
International application No. PCT/JP2003/008244	International filing date (day/month/year) 27 June 2003 (27.06.2003)	Priority date (day/month/year) 28 June 2002 (28.06.2002)
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC A61K 9/51, 47/42, 48/00, A61P 1/16, 35/00, 43/00		
Applicant JAPAN SCIENCE AND TECHNOLOGY CORPORATION		

1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.
2. This REPORT consists of a total of <u>7</u> sheets, including this cover sheet. <input checked="" type="checkbox"/> This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT). These annexes consist of a total of <u>2</u> sheets.
3. This report contains indications relating to the following items: I <input checked="" type="checkbox"/> Basis of the report II <input type="checkbox"/> Priority III <input checked="" type="checkbox"/> Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability IV <input type="checkbox"/> Lack of unity of invention V <input checked="" type="checkbox"/> Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement VI <input type="checkbox"/> Certain documents cited VII <input type="checkbox"/> Certain defects in the international application VIII <input checked="" type="checkbox"/> Certain observations on the international application

Date of submission of the demand 10 December 2003 (10.12.2003)	Date of completion of this report 13 April 2004 (13.04.2004)
Name and mailing address of the IPEA/JP Facsimile No.	Authorized officer Telephone No.

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/JP2003/008244

I. Basis of the report

1. With regard to the elements of the international application:*

- ☐ the international application as originally filed
- ☒ the description:
pages _____ 1-34 _____, as originally filed
pages _____, filed with the demand
pages _____, filed with the letter of _____
- ☒ the claims:
pages _____ 2-11 _____, as originally filed
pages _____, as amended (together with any statement under Article 19
pages _____, filed with the demand
pages _____ 1 _____, filed with the letter of _____ 15 March 2004 (15.03.2004)
- ☒ the drawings:
pages _____ 1/13-13/13 _____, as originally filed
pages _____, filed with the demand
pages _____, filed with the letter of _____
- ☒ the sequence listing part of the description:
pages _____ 1/19-19/19 _____, as originally filed
pages _____, filed with the demand
pages _____, filed with the letter of _____

2. With regard to the language, all the elements marked above were available or furnished to this Authority in the language in which the international application was filed, unless otherwise indicated under this item.

These elements were available or furnished to this Authority in the following language _____ which is:

- ☐ the language of a translation furnished for the purposes of international search (under Rule 23.1(b)).
- ☐ the language of publication of the international application (under Rule 48.3(b)).
- ☐ the language of the translation furnished for the purposes of international preliminary examination (under Rule 55.2 and/or 55.3).

3. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international preliminary examination was carried out on the basis of the sequence listing:

- ☒ contained in the international application in written form.
- ☒ filed together with the international application in computer readable form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in written form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in computer readable form.
- ☐ The statement that the subsequently furnished written sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed has been furnished.
- ☒ The statement that the information recorded in computer readable form is identical to the written sequence listing has been furnished.

4. ☐ The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description, pages _____
- ☐ the claims, Nos. _____
- ☐ the drawings, sheets/fig _____

5. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).**

* Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to this report since they do not contain amendments (Rule 70.16 and 70.17).

** Any replacement sheet containing such amendments must be referred to under item 1 and annexed to this report.

III. Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability

1. The questions whether the claimed invention appears to be novel, to involve an inventive step (to be non obvious), or to be industrially applicable have not been examined in respect of:

☐ the entire international application.

☒ claim No. 11

because:

☒ the said international application, or the said claim No. 11 relates to the following subject matter which does not require an international preliminary examination (*specify*):

The invention of claim 11 concerns a method for treating the human body by therapy, which does not require an international preliminary examination by the International Preliminary Examining Authority in accordance with PCT Article 34(4)(a)(i) and Rule 67.1(iv).

☐ the description, claims or drawings (*indicate particular elements below*) or said claims Nos. _____ are so unclear that no meaningful opinion could be formed (*specify*):

☐ the claims, or said claims Nos. _____ are so inadequately supported by the description that no meaningful opinion could be formed.

☒ no international search report has been established for said claim No. 11.

2. A meaningful international preliminary examination cannot be carried out due to the failure of the nucleotide and/or amino acid sequence listing to comply with the standard provided for in Annex C of the Administrative Instructions:

☐ the written form has not been furnished or does not comply with the standard.

☐ the computer readable form has not been furnished or does not comply with the standard.

V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement**1. Statement**

Novelty (N)	Claims	5, 9, 10	YES
	Claims	1-4, 6-8	NO
Inventive step (IS)	Claims		YES
	Claims	1-10	NO
Industrial applicability (IA)	Claims	1-10	YES
	Claims		NO

2. Citations and explanations

- Document 1: EP 919568 A1 (SORIN DIAGNOSIS S R L) June 2, 1999, entire text; claim 29 & US 6172193 A & JP 11-253184 A
- Document 2: MANGOLD, C.M. et al. "Analysis of intermolecular disulfide bonds and free sulfhydryl groups in hepatitis B surface antigen particles." Arch. Virol., 1997, Vol. 142, No. 11, p. 2257-2267, entire text; Figs. 3 and 4
- Document 3: PRANGE, R. et al. "Mutational analysis of HBsAg assembly." Intervirology, 1995, Vol. 38, Nos. 1-2, p. 16-23, entire text; Table 1
- Document 4: MANGOLD, C.M. et al., "Secretion and antigenicity of hepatitis B virus small envelope proteins lacking cysteines in the major antigenic region." Virology, 1995, Vol. 211, No. 2, p. 535-543, entire text; Figs. 1-5; Tables 1 and 2
- Document 5: BRUCE S.A. et al, "Mutations of some critical amino acid residues in the hepatitis B virus surface antigen." J. Med. Virol., 1995, Vol. 46, No. 2, p. 157-161, entire text; Fig. 1
- Document 6: ANTONI, B.A. et al. "Site-directed mutagenesis of cysteine residues of hepatitis B surface antigen. Analysis of two single mutants and the double mutant." Eur. J. Biochem., 1994, Vol. 222, No. 1, p. 121-127, entire text; Figs. 1-4
- Document 7: MANGOLD, C.M. et al. "Mutational analysis of the cysteine residues in the hepatitis B virus small envelope protein." J. Virol., 1993, Vol. 67, No. 8, p. 4588-4597, entire text; Fig. 3
- Document 8: ASHTON-RICKARDT, P.G. et al. "Mutants of the hepatitis B virus surface antigen that define some antigenically essential residues in the immunodominant a region." J. Med. Virol., 1989, Vol. 29, No. 3, p. 196-203, entire text; Fig. 1
- Document 9: WO 01/64930 A1 (JAPAN SCIENCE AND TECHNOLOGY CORP) September 7, 2001 & EP 1262555 A1 & JP 2001-316298 A

(Documents 1-9 above were cited in the international search report.)

VIII. Certain observations on the international application

The following observations on the clarity of the claims, description, and drawings or on the question whether the claims are fully supported by the description, are made:

(A)

The descriptions of claims 1, 3, 4, and 6-10 include hollow nanoparticles having the specific property of "comprising a protein that has the capability of recognizing specific cells and has the capability of forming particles" as an invention-specific matter. This description can encompass a variety of items and hollow nanoparticles with such properties, but the only hollow nanoparticles supported by the Specification in the sense of PCT Article 6 and fully disclosed in the sense of PCT Article 5 are the hollow nanoparticles derived from hepatitis B virus surface antigen protein.

As a result, this report has been prepared based on the results of a search primarily conducted on prior art in which hepatitis B virus surface antigen protein or a modified form thereof is utilized as the protein comprising the above hollow nanoparticles.

(B)

In addition, with respect to the descriptions in claims 2 and 5, which restrict the protein to the hepatitis B virus surface antigen protein, claim 2 does not specify the locations of the cysteine residues to be replaced and the details of their replacement, and claim 5 does not specify the species of amino acid that replaces each cysteine residue. Therefore, the descriptions of both claims 2 and 5 encompass an extremely large number of hollow nanoparticles with different amino acid sequences.

Regardless, this examination finds that only a very few examples of such replacement that lie within the scope of the claim are supported by the Specification in the sense of PCT Article 6 and fully disclosed in the sense of PCT Article 5.

Supplemental Box

(To be used when the space in any of the preceding boxes is not sufficient)

Continuation of Box V:

(1)

Document 1 describes hollow nanoparticles comprising a hepatitis B virus surface antigen protein in which at least one of amino acids 120-123, 147 or 149 in that protein is replaced by another amino acid, and as an example, it lists the 149 cysteine residue that is present on the exterior of the particles being replaced by a tyrosine (corresponding to a hydrophilic amino acid).

As a result, based on the description in document 1, the inventions of claims 1, 2 and 6-8 lack novelty and an inventive step.

Even when the restriction of "to encapsulate a substance to be introduced into a cell" is added, this examination finds that the invention of claim 1 is an invention concerning the hollow nanoparticles *per se*, i.e., a chemical substance *per se*. (This point also applies to the findings and decision in item (2) below.)

In addition, as described in document 9, the formulation of a drug in which a gene that encodes a useful protein is encapsulated in hollow nanoparticles comprising the same hepatitis B virus surface antigen protein as described in document 1 as a substance to be introduced into a cell was previously known, and this examination finds that utilizing the hepatitis B virus surface antigen protein that maintains its particle forming capability and can be obtained based on the description in document 1 in place of the hollow nanoparticles described in document 9 does not present any particular technical difficulty to persons skilled in the art.

Furthermore, based on specific comparative test data, etc., this examination does not find that all drugs that contain these kinds of modified HBsAg hollow nanoparticles provide a particularly outstanding effect that goes beyond that which can be foreseen from prior art technology, which is exemplified by the drug containing the hollow nanoparticles described in document 9, with respect to the specific introduction into tissues of a substance to be introduced into a cell, for example. In other words, in claims 9 and 10 the use of the specific modified hollow nanoparticles alone, which are disclosed by Figures 8-13 of this application to provide an unforeseeable outstanding effect in the GFP introduction rate in comparison to the use of wild HBsAg particles, cannot be considered an invention-specific matter.

As a result based on the descriptions in documents 1 and 9, the inventions of claims 9 and 10 lack an inventive step.

(2)

Documents 2-8 describe mutant hollow nanoparticles obtained by the replacement with another amino acid of one or more of the cysteine residues at Nos. 48, 65, 69, 76, 90, 107, 121, 124, 137, 138, 139, 147, 149 and 221 that are present in the amino acid sequence that comprises the hepatitis B virus surface antigen protein. As specific examples, documents 2 and 3 specifically describe mutant hollow nanoparticles in which one of the cysteine residues at Nos. 76, 90 or 221, which are present in the transmembrane region, is replaced with alanine or phenylalanine (both corresponding to hydrophobic amino acids). Document 4 specifically describes mutant hollow nanoparticles in which one of the cysteine residues at Nos. 107 and 149, which are present in the transmembrane region, is replaced by alanine. Document 5 specifically describes mutant hollow nanoparticles in which one of the cysteine residues at Nos. 137-139, which are present on the exterior of the particle, is replaced with serine (corresponding to a hydrophilic amino acid). Document 6 describes mutant hollow nanoparticles in which one of the cysteine residues at Nos. 121 and 124, which are present on the exterior of the particle, is replaced with serine. Document 7 specifically describes mutant hollow nanoparticles in which one of the cysteine residues at Nos. 76 and 90, which are present in the transmembrane region, is replaced with alanine, and/or one of the cysteine residues at Nos. 48, 65 and 69, which are present on the interior of the particle, is replaced with serine. Document 8 specifically describes mutant hollow nanoparticles in which one of the cysteine residues at Nos. 121 and 147, which are present on the exterior of the particle, is replaced with serine.

As a result, based on any of documents 2-8, the inventions of claims 1-4 and 6-8 lack novelty and an inventive step.

Supplemental Box

(To be used when the space in any of the preceding boxes is not sufficient)

Continuation of Box V:

In addition, other than the mutant hollow nanoparticles specifically listed in documents 2-8, this examination finds that based on any of the above documents, replacing some or all of the 14 cysteine residues listed above with other amino acids and then testing to see whether there are any resulting changes in the properties of the hollow nanoparticles presents no particular technical difficulty to persons skilled in the art. Therefore, based on any of documents 2-8 and 9, the invention of claim 5 lacks an inventive step.

In addition, as described in document 9, the formulation of a drug in which a gene that encodes a useful protein is encapsulated in hollow nanoparticles comprising the same hepatitis B virus surface antigen protein as described in documents 2-8 as a substance to be introduced into a cell was previously known, and this examination finds that utilizing the hepatitis B virus surface antigen protein that maintains its particle forming capability and can be obtained based on the description in any of documents 2-8 in place of the hollow nanoparticles described in document 9 does not present any particular technical difficulty to persons skilled in the art.

Furthermore, based on specific comparative test data, etc., this examination does not find that all drugs that contain these kinds of modified HBsAg hollow nanoparticles provide a particularly outstanding effect that goes beyond that which can be foreseen from prior art technology, which is exemplified by the drug containing the hollow nanoparticles described in document 9, with respect to the specific introduction into tissues of a substance to be introduced into a cell, for example. In other words, in claims 9 and 10 the use of the specific modified hollow nanoparticles alone, which are disclosed by Figures 8-13 of this application to provide an unforeseeable outstanding effect in the GFP introduction rate in comparison to the use of wild HBsAg particles, cannot be considered an invention-specific matter.

As a result based on the descriptions in any of documents 2-8, the inventions of claims 9 and 10 lack an inventive step.